

顺轴疲劳运动对兔髌股关节软骨损伤的影响

<https://doi.org/10.12307/2022.000>

谭新访¹, 郭艳幸², 秦晓飞², 张斌清², 赵东亮², 潘琨琨², 李瑜卓², 陈皓宇²

投稿日期: 2021-06-04

送审日期: 2021-06-08

采用日期: 2021-07-22

在线日期: 2021-09-28

中图分类号:

R459.9; R318; R873

文章编号:

2095-4344(2021)00-00000-07

文献标识码: A

文章快速阅读:

文章亮点—

△髌股关节软骨损伤被证实与疲劳运动有关, 将人类髌股关节软骨损伤的致病机制类比到动物关节上, 是否可以造成动物髌股关节软骨的损伤?

△基于以上考虑, 借助机械运动造成实验动物髌股关节过度活动, 观察是否能造成髌股关节软骨损伤, 并探究 MRI 与病理切片是否可以观察到相符合的软骨病变。

运动造模

(1) 大耳白兔适应性饲养后利用自动式髌骨软化症造模机进行膝关节顺轴疲劳运动。
(2) 右后膝为实验组, 左后膝为对照组。

模型检测

(1) 双侧膝关节进行3.0T核磁共振图像采集。
(2) 对髌股关节进行取材, 苏木精-伊红染色评估软骨组织学损伤程度。

研究结论

顺轴疲劳运动会造成实验动物髌股关节软骨损伤, 这种损伤可以经影像与组织学证实。

文题释义:

顺轴疲劳运动: 疲劳运动是多数骨关节病的发病机制或者诱发原因, 顺轴疲劳运动即顺应关节自然活动轴线, 不进行偏角设置的疲劳运动, 更符合关节运动的现实情况以及发病机制。

髌股关节: 是膝关节的主要构成部分之一, 由髌骨与股骨滑车组成, 周围包覆韧带与滑膜组织, 髌骨下有丰富的髌下脂肪垫。髌股关节在膝关节屈伸过程中活动明显。髌股关节软骨损伤常会出现髌股关节综合征, 屈膝30°-60°时髌骨作用于股骨的压力最大, 所以在上下楼梯以及膝关节大幅度屈伸等动作时疼痛明显。

摘要

背景: 以髌股关节软骨损伤为主要特征的疾病临床发病率高, 但目前的研究对其病因认识不足。过度活动是临床广泛认可的病理机制之一, 对认识髌股关节损伤的发生与发展有重要的意义。

目的: 观察顺轴疲劳运动对髌股关节软骨的影响, 探究疲劳运动对兔髌股关节软骨造成的损害, 为了解过度活动对髌股关节软骨病变的影响提供实验依据。

方法: 将8只新西兰大耳白兔适应性饲养1周后, 选取右后膝为实验侧, 将右后膝固定于造模机上进行顺轴疲劳运动, 活动角度设置为0°-95°, 活动频率为60次/min, 每天活动90 min, 持续2周; 左后膝不做处理。造模结束后采集动物膝关节MRI图像, 之后麻醉处死动物并取材, 对髌股关节进行软骨组织切片观察以及软骨Mankin评分。

结果与结论: ①实验侧髌骨软骨出现明显的损害; ②顺轴疲劳运动2周后, 实验侧髌骨软骨颜色晦暗、可见裂隙存在, 髌骨软骨面粗糙, 髌骨-股骨接触面边缘增生; 对照侧没有发现明显的软骨退变; ③膝关节MRI结果显示, 实验侧髌骨软骨信号不均匀; ④苏木精-伊红染色后, 光镜下观察实验侧软骨表面不光滑, 可见软骨细胞增殖, 排列紊乱, 多条潮线; 实验侧Mankin评分明显高于对照侧, 差异有显著性意义($P < 0.05$); ⑤提示持续2周的顺轴疲劳运动可以造成兔髌股关节软骨轻度病损, 出现软骨肿胀、裂隙等病理改变。

关键词: 髌股关节; 软骨; 髌骨软化症; 顺轴疲劳运动; 动物模型; 病理

Effect of uniaxial fatigue exercise on patellofemoral cartilage injury in a rabbit

Tan Xinfang¹, Guo Yanxing², Qin Xiaofei², Zhang Binqing², Zhao Dongliang², Pan Kunkun², Li Yuzhuo², Chen Haoyu²

¹Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, Henan Province, China; ²Luoyang Orthopedic-Traumatological Hospital of Henan Province (Henan Provincial Orthopedic Hospital), Luoyang 471000, Henan Province, China

Tan Xinfang, Master candidate, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, Henan Province, China

Corresponding author: Guo Yanxing, Chief physician, Master's supervisor, Doctoral supervisor, Luoyang Orthopedic-Traumatological Hospital of Henan Province (Henan Provincial Orthopedic Hospital), Luoyang 471000, Henan Province, China

Abstract

BACKGROUND: There is a high incidence of patellofemoral cartilage injury in clinical practice. However, the current research on its etiology is insufficient. Hyperactivity is one of the pathological mechanisms widely recognized in clinic, and understanding the occurrence and development of patellofemoral injury is of great significance.

¹河南中医药大学, 河南省郑州市 450000; ²河南省洛阳正骨医院(河南省骨科医院), 河南省洛阳市 471000

第一作者: 谭新访, 女, 1996年生, 河南省舞钢市人, 汉族, 河南中医药大学在读硕士, 主要从事骨与关节损伤方面的研究。

通讯作者: 郭艳幸, 主任医师, 硕士生导师, 博士生导师, 河南省洛阳正骨医院(河南省骨科医院), 河南省洛阳市 471000

<https://orcid.org/0000-0002-7819-2343> (谭新访); <https://orcid.org/0000-0003-1085-8046> (郭艳幸)

基金资助: 全国中医学学术流派传承工作室建设项目(国中医药人教函[2016]227号), 项目负责人: 郭艳幸; 2019年河南省科技攻关项目(192102310433), 项目负责人: 郭艳幸

引用本文: 谭新访, 郭艳幸, 秦晓飞, 张斌清, 赵东亮, 潘琨琨, 李瑜卓, 陈皓宇. 顺轴疲劳运动对兔髌股关节软骨损伤的影响

[J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(00):0000-0000.



OBJECTIVE: To study the effect of uniaxial fatigue exercise on the patellofemoral articular cartilage, and to explore patellofemoral cartilage injuries caused by fatigue in rabbits, so as to provide an experimental basis for understanding the effect of hyperactivity on patellofemoral cartilage lesions.

METHODS: Eight New Zealand white rabbits were adaptively fed for 1 week. The right knee of each rabbit was selected as the experimental side and the left knee as the control side. The right knee was fixed on a modeling machine for uniaxial fatigue exercise, and the activity angle was set to be 0°–95° and the activity frequency was set at 60 beats per minute, 90 minutes a day, for 2 weeks. The left knee of each rabbit was untreated. After modeling, MRI images of the rabbit knee joints were collected. The animals were then sacrificed and sampled, and the cartilage tissue sections of the patellofemoral joint were observed and assessed by the Mankin score.

RESULTS AND CONCLUSION: The patellar cartilage of the experimental side was significantly damaged. After 2 weeks of uniaxial fatigue exercise, the patellar cartilage of the experimental side had dull color, visible fissures, rough surface, and hyperplasia at the edge of the patellofemoral interface, while no obvious cartilage degeneration was observed on the control side. The results of knee MRI showed that the signal intensity of the patellar cartilage on the experimental side was heterogeneous. Hematoxylin-eosin staining results revealed that the cartilage surface of the experimental side was not smooth, and chondrocyte proliferation, disarrangement, and multiple tidal lines were observed under a light microscope. The Mankin score of the experimental side was significantly higher than that of the control side ($P < 0.05$). These findings indicate that 2-week uniaxial fatigue exercise can cause mild damage to the cartilage of the patellofemoral joint in rabbits, accompanied by pathological changes such as cartilage swelling and fissures.

Key words: patellofemoral joint; cartilage; chondromalacia patellae; uniaxial fatigue exercise; animal model; pathology

Funding: the National Traditional Chinese Medicine Academic Schools Inheritance Studio Construction Project, No. [2016]227 (to GYX); the Science and Technology Project of Henan Province in 2019, No. 192102310433 (to GYX)

How to cite this article: TAN XF, GUO YX, QIN XF, ZHANG BQ, ZHAO DL, PAN KK, LI YZ, CHEN HY. Effect of uniaxial fatigue exercise on patellofemoral cartilage injury in a rabbit. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu.* 2021;25(0):000-000.

0 引言 Introduction

髌股关节软骨常常在受到损伤后，出现髌骨软骨肿胀、软化、龟裂、剥脱等改变，成为慢性膝前疼痛的主要原因^[1-2]，股骨滑车沟在摩擦中也会产生相似的病变^[3]。临床上以髌股关节软骨为主要特征的疾病称之为髌骨软化症或者髌股关节炎，也有人认为髌骨软化症是髌骨关节炎的早期表现。

髌骨软化症好发于青壮年，但其他年龄也有发病^[1]，常引起膝前部位的疼痛^[4-5]。目前关于髌股关节软骨损伤的发病原因尚无定论，过度活动、体质量指数、性别、髌股形态、髌股对应关系、肌肉力量、软骨营养等都被认为与之相关^[6-19]。有研究表明，在活动量大的人群中，髌骨软化症的发病率更高^[20-22]。

此次研究从打破关节动静平衡的角度出发，采用机械造模的方法，建立顺轴疲劳运动兔模型，研究过度活动对髌股关节软骨的影响，为建造稳定可靠的髌股关节软骨损伤动物实验模型提供依据与参考。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 对比观察动物造模实验，对 Mankin 评分结果进行正态性检验后，对符合或者近似符合正态性的数据进行配对 *t* 检验，偏态数据进行配对秩和检验。

1.2 时间及地点 于 2020 年 10–12 月在河南省洛阳正骨医院（河南省骨科医院）动物实验中心完成。

1.3 材料

1.3.1 实验动物 选取普通级雌性家兔 8 只，体质量 2.5–3.0 kg，购自陕西省咸阳市西咸新区沣东新城实验动物养殖场，实验动物机构许可证号：SCXK(陕)2017-002。

1.3.2 实验仪器 自动式滑膜炎造模机器（国家发明专利 ZL 201510845488.2），3.0T 西门子 MRI 仪，全自动脱水仪器（Tissue-Tke®VIPTM5Jr），包埋机（派斯杰医疗 BM450A），全自动切片机（Leica HistoCore AUTOCUT），自动染色机（LEICA AUTISTAINER XL ST5010），光学显微镜（OLYMPUS BX41）。

1.4 实验方法

1.4.1 实验分组及干预 将实验动物适应性喂养 1 周后，选

取右后肢为实验组，左后肢为空白对照组。将实验动物称质量后，按照体质量给予戊巴比妥钠注射液（0.3 mg/kg）肌注进行麻醉。待麻醉生效后，将实验动物侧卧固定于实验台上，利用自动式造模机器进行造模，制备髌股关节软骨损伤模型。造模机器由触屏控制箱与活动主体部分组成，活动主体部分主要由滑台、滑台底座、大小腿固定板构成。滑台通过金属连杆与小腿固定板连接，小腿固定板通过合页与大腿固定板连接，大腿固定板另一端通过直角连杆固定于滑台底座上，见图 1。通过滑台运动带动小腿的屈伸，实现膝关节的屈伸活动，从而使髌骨在股骨髁间摩擦活动。

1.4.2 造模方法 造模时，先打开造模机器将滑台运行到原点，使兔右膝关节与造模机器的大小腿活动关节对齐，大腿和小腿分别固定在大腿固定板和小腿固定板上。利用触屏控制箱设置活动参数：时间 90 min，速度 60 次/min，角度 0°–95°。造模活动结束后正常饮食，自由活动，造模持续 2 周。造模结束后，麻醉处死动物，切开双侧关节囊，暴露髌股关节，大体观察髌股关节软骨情况，并对双侧髌股关节进行病理取材。

组织工程实验动物造模过程的相关问题

造模目的	通过顺轴疲劳运动建造兔的髌股关节软骨损伤模型
选择动物的条件	普通级雌性新西兰兔
模型与所研究疾病的关系	髌股关节软骨损伤会出现膝前疼痛等症状，出现髌骨软骨以及股骨髁间对应面软骨的肿胀、裂隙等；髌骨软化症或者髌股关节炎主要以髌骨关节软骨的破坏、退变为特征
动物来源及品系	新西兰兔购自陕西省咸阳市西咸新区沣东新城实验动物养殖场
造模技术描述	利用造模机器将兔的实验侧后肢固定后，以造模机器的大小腿板带动实验侧动物膝关节进行屈伸活动
动物数量及分组方法	8 只动物，自体配对分组，左后侧膝关节为对照组，右后侧膝关节为实验组
造模成功评价指标	MRI 检测结果显示，实验动物右侧髌骨软骨在 T2 序列上信号不连续，中间有高光信号影
造模后观察指标	软骨表面肉眼观察、Mankin 软骨组织评分
造模后动物处理	处死采集髌股关节组织，肉眼观察后进行病理切片
伦理委员会批准	实验方案经河南省洛阳正骨医院（河南省骨科医院）动物实验伦理委员会批准，批准号为 KY2020-009-02

1.5 主要观察指标

1.5.1 大体观察 麻醉处死实验动物后,观察髌骨软骨及髌骨-股骨对应面软骨颜色、光泽度,以及软骨是否有发泡、溃烂、裂隙、血管翳样组织等。

1.5.2 组织学评价 将组织置于体积分数4%的甲醛溶液中固定24 h,之后置于30%甲酸溶液中脱钙1周。脱钙完成后,将髌骨及周围组织沿矢状轴分为内侧和外侧两部分,大小约为3 cm×0.5 cm×0.5 cm,股骨及周围组织沿矢状轴切为内侧、中间、外侧三部分,大小约为3 cm×2 cm×2.5 cm。将组织置于全自动脱水仪器(Tissue-Tek®VIPTM5Jr),进行梯度脱水,之后利用包埋机(派斯杰医疗BM450A)进行包埋,在蜡块冷却变硬后,固定于切片机(Leica HistoCore AUTOCUT)上做厚度5 μm的连续切片,重复切片测量求平均值以减小误差。将切好的组织薄片置于载玻片上,烘烤20 min后,上自动染色机(LEICA AUTISTAINER XL ST5010),经二甲苯及梯度乙醇脱蜡后切片行苏木精-伊红染色,结束后滴加封固胶,加盖盖玻片,置于光学显微镜(OLYMPUS BX41)下观察,并按照Mankin组织学评分进行评价^[23],根据表层软骨细胞分裂程度、细胞排列、染色程度、潮线、血管翳生成等5个方面进行评分,按照正常、轻度、中度、重度4个等级分别评为0-3分,汇总得出最后评分。

1.6 统计学分析 利用SPSS 26.0软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,符合正态性或近似正态的数据进行配对t检验,严重偏态数据进行配对秩和检验,检验水准为 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 纳入实验动物8只,左侧后肢为对照组,右侧后肢为实验组,全部进入结果分析,无脱落。

2.2 MRI检测结果 造模结束后对实验动物进行MRI检测,正常关节软骨在MRI影像上显示为低信号;左侧髌骨软骨信号均匀且连续,实验动物右侧髌骨软骨在T2序列上信号不连续,中间有高信号影,见图2。

2.3 大体观察结果 实验兔左膝空白对照侧,髌骨软骨及股骨对应面软骨呈蓝白色,软骨表面光滑,未见明显软化病灶或者裂隙;左侧滑膜组织表面光滑、湿润,有光泽,见图3A。实验兔右侧造模侧,髌骨软骨及股骨对应面软骨呈灰白色,颜色晦暗、表面不平整,偶见软骨裂隙,边缘软骨肿胀明显,见图3B, C;右侧软骨周围滑膜样组织增生,局灶灰红色改变,见图3D。

2.4 组织学观察(苏木精-伊红染色)结果 光镜下观察可见左侧髌骨及股骨对应面软骨表面光滑,具有丰富的玻璃样细胞外基质,表层排列有扁平的软骨细胞,中间层可见球形软骨细胞,深层软骨细胞肥大,在深层和钙化层可见增生的软骨细胞,见图4A, B。右侧髌骨及股骨对应面软骨表层增厚,可见“天鹅绒”样改变;细胞外基质减少,软骨中层与深层细胞失去柱状排列,软骨细胞增殖明显,可见局灶性细

胞增殖,形成再生软骨细胞克隆,增生的软骨细胞周围基质呈嗜碱性,软骨细胞排列紊乱;软骨表面可见特征性水泡,有软骨细胞灶性坏死,有血管伸入软骨钙化层,钙化软骨与非钙化软骨间多条潮线或潮线模糊,且潮线不规则,见图4C-F。

光镜下观察滑膜组织,左侧空白对照侧间滑膜边缘单排细胞紧密排列,见图5A。右侧造模侧可见滑膜组织肥厚增生,局部呈乳头状,衬覆的滑膜细胞丰富,局部表面可见纤维素样渗出,伴轻度炎性细胞浸润,见图5B。

2.5 软骨Mankin评分统计分析结果 将软骨光镜观察结果按照软骨Mankin评分进行评估,将评分结果导入SPSS 26.0软件进行统计分析。按照实验设计,选用配对t检验进行统计分析。将两侧髌股关节评分结果导入SPSS 26.0软件,求得差值后,对差值进行正态性检验, $P>0.05$,差值符合正态性,进行配对t检验。左侧髌股关节评分为 1.56 ± 1.02 ,右侧髌股关节评分为 3.88 ± 1.13 ,两组数据总体均数相比差异有显著性意义(差值为2.31,95%CI: 1.34-3.28, $P=0.001$),见表1。

表1 | 两侧髌股关节软骨评分对比
Table 1 | Comparison of the Mankin scores of bilateral patellofemoral joints

项目	$\bar{x}\pm s$
左侧	1.56±1.02
右侧	3.88±1.13
差值(95%置信区间)	2.31(1.34-3.28)
t值	5.624
P值	0.001

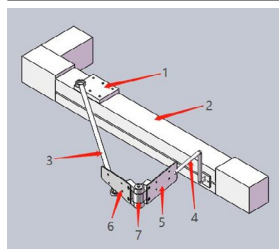
表注:差值及95%置信区间在配对t检验中得到

进一步进行比较分析,将差值符合正态性分布的进行配对t检验,不符合正态性分布的进行配对秩和检验。左右两侧股骨髌间软骨分别与同侧髌骨软骨进行比较,差异无显著性意义($P=0.830$, $P=0.142$);但左侧髌骨软骨评分与右侧髌骨软骨评分进行比较,左侧髌骨软骨评分 1.13 ± 1.13 ,右侧髌骨软骨评分 3.50 ± 1.93 ,两组数据总体均数相比差异有显著性意义(差值为2.38,95%CI: 1.29-3.46, $P=0.001$);左侧股骨髌间软骨与右侧股骨髌间软骨评分比较,左侧股骨髌间软骨评分 1.50 ± 1.20 ,右侧股骨髌间软骨评分 4.25 ± 1.58 ,两组数据总体均数相比差异有显著性意义(差值为2.75,95%CI: 1.59-3.91, $P=0.001$),见表2。

表2 | 两侧髌骨、股骨软骨评分对比
Table 2 | Comparison of the Mankin scores of bilateral patellar and femoral cartilage

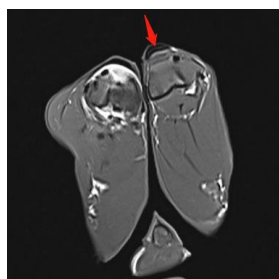
项目	差值(95%置信区间)	t检验/秩和检验	
		统计值	P值
左侧髌骨 vs. 左侧股骨		Z=1.730*	0.830*
右侧髌骨 vs. 右侧股骨	0.75(-0.32-1.82)	t=1.655	0.142
左侧髌骨 vs. 右侧髌骨	2.38(1.29-3.46)	t=5.158	0.001
左侧股骨 vs. 右侧股骨	2.75(1.59-3.91)	t=5.601	0.001

表注:差值不符合正态性分布时,进行配对秩和检验,*为基于配对秩和检验获得Z值与P值;差值符合正态性分布时,进行配对t检验,基于配对t检验获得t值与P值。以 $P<0.05$ 为差异有显著性意义



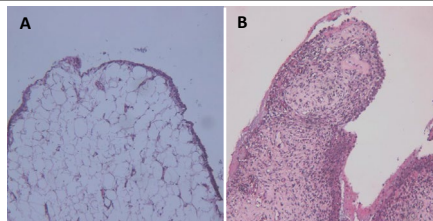
图注: 1 为滑台, 2 为滑台底座, 3 为金属连杆, 4 为直角连杆, 5 为大腿固定板, 6 为小腿固定板, 7 为合页
图 1 | 自动式滑膜炎造模机器活动主体部分

Figure 1 | Activity main parts of the modeling machine for synovitis



图注: 左膝髌骨软骨信号均匀, 右膝髌骨软骨中有高信号影(脚先进), 如箭头所示

图 2 | 实验兔后肢双膝 MRI 检测结果
Figure 2 | MRI detection of the knee joints in bilateral hindlimbs of experimental rabbits



图注: 图 A 为左侧对照组正常滑膜组织, 滑膜边缘单排细胞紧密排列; B 为右侧实验侧增生肥大滑膜组织, 滑膜细胞丰富, 有纤维素样渗出
图 5 | 实验兔对照侧与实验侧滑膜组织观察对比(苏木精-伊红染色, $\times 40$)
Figure 5 | Comparison of synovial tissue observation between the control side and the experimental side of experimental rabbits (hematoxylin-eosin staining, $\times 40$)

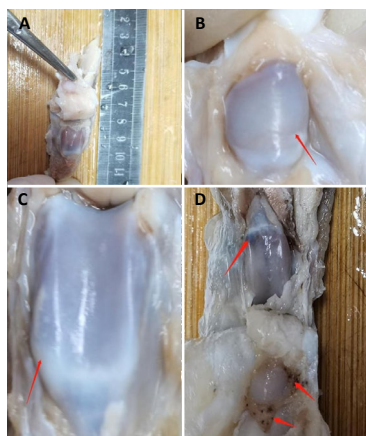
3 讨论 Discussion

膝前疼痛是临床骨科疾病的常见症状^[24], 髌股关节的软骨病损, 例如髌骨软化症是引起膝前疼痛的主要原因之一^[25-26]。髌股关节软骨病损的发病原因复杂, 有人认为与髌骨的异常结构有关^[25], 也有研究发现了过度活动与疾病之间的相关性^[27]。临床中的患者常自述在过度活动, 比如爬山、上下楼梯后, 膝前疼痛的症状会加重^[3]。但即使对发病原因的认识有差异, 也都认为其病理机制是软骨遭受到了破坏^[28], 而软骨病损是由于机械应力引起的关节软骨磨损或者伴随滑膜炎和分解代谢的破坏^[29]。

目前髌骨软化症的动物实验因缺乏合适的动物模型, 研究进展缓慢。当前应用的动物模型主要采取膝关节骨性关节炎的造模方法, 通过手术或者注射药物的方法使得髌股关节软骨发生病损^[29-31]。但髌股关节软骨损伤的病损主要局限在髌骨软骨与股骨滑车处, 同时也会影响到周围的滑膜等组织, 但整体病变较为轻微, 而膝关节骨性关节炎的模型病变严重, 软骨变薄甚至磨损消失, 严重者可产生骨赘等, 并不完全适合髌股关节软骨损伤的研究。也有学者通过髌支持带手术导致髌骨倾斜来建造髌股关节软骨损伤的模型, 并且在实验中观察到了髌骨软骨的组织学改变^[32-33], 但是不能排除手术破坏关节周围血供与滑液对关节软骨造成的负面影响, 与人类髌股关节软骨损伤的发病缺乏相关性, 在推广应用上有所限制。顺轴疲劳运动建造髌股关节损伤模型, 顺应关节本身的自然活动轨迹与发病机制, 既可针对性造成髌股关节软骨的损伤, 又能够避免手术等对关节血运及软骨营养的影响。

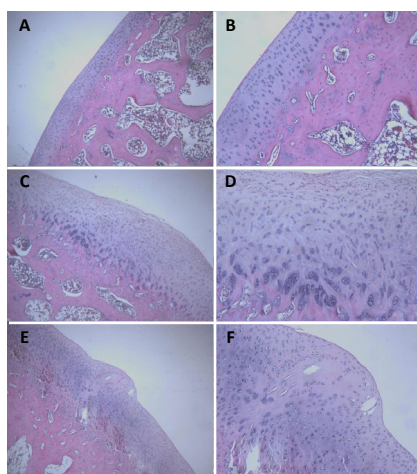
此次研究在参考前人造模经验的基础上, 基于临床普遍认可的过量活动病因及病理机制, 采用运动造模的方法导致髌股关节软骨的病损, 建造髌股关节软骨损伤动物模型。实验动物选取新西兰兔, 因兔的膝关节结构与人类接近, 在兔的膝关节上采用自体对照实验的方法, 将左侧膝关节作为空白对照组, 右侧膝关节作为实验组, 利用自动造模机器进行顺轴疲劳运动造模; 之后采用 MRI 检测加软骨病理切片等权威检测方法, 确定是否成功建立髌股软骨病损的模型^[34-35]。

在此次实验中, 2 周的顺轴疲劳运动后髌骨软骨以及股骨与髌骨的对应面软骨出现病损; 大体观察可观察到实验侧的软骨病损, 软骨周围可见滑膜样组织的增生; 在 MRI 检查中,



图注: 图 A 为对照侧软骨, 软骨表面光滑, 未见明显病灶; B 为实验侧软骨表面, 可见软骨裂隙(箭头所示); C 示实验侧软骨边缘软骨肿胀, 软骨表面可见发泡样改变(箭头所示); D 示实验侧软骨周围滑膜样组织增生, 可见局灶性灰红色改变(箭头所示)

图 3 | 实验兔对照侧与实验侧软骨大体观察对比
Figure 3 | Comparison of gross observation of the cartilage between control side and experimental side of experimental rabbits



图注: 图 A 示左侧对照侧软骨表面光滑, 中层与深层软骨细胞柱状排列, 偶见软骨细胞增殖、肥大($\times 40$); 图 B 为图 A 高倍图($\times 100$); 图 C 示右侧实验侧软骨表面纤维破坏, 细胞排列紊乱, 可见局灶性细胞增殖, 有血管伸入钙化层($\times 40$); 图 D 为图 C 高倍图($\times 100$); 图 E 示右侧实验侧软骨见特征性水泡改变, 潮线紊乱($\times 40$); 图 F 为图 E 的高倍图($\times 100$)

图 4 | 实验兔对照侧与实验侧软骨组织学观察对比(苏木精-伊红染色)
Figure 4 | Comparison of histological observation of the cartilage between the control side and the experimental side of experimental rabbits (hematoxylin-eosin staining)

实验侧的髌骨软骨信号不均匀；另外实验侧与空白对照侧的镜下观察也存在明显的差异，而且这种差异在统计学上仍旧支持，而同侧的髌骨软骨与股骨软骨之间差异无显著性意义。

此次实验中观察到与既往髌股关节软骨损伤动物模型研究相似的结果：在光镜下见到实验侧软骨表面的“天鹅绒”样改变，这种软骨表面的纤颤，被认为与损伤的软骨细胞释放溶酶体酶后的酶降解和蛋白多糖降解引起的创伤影响和胶原丢失有关^[36]；光镜下观察到的实验侧滑膜组织的增生以及炎性细胞的浸润，说明滑膜组织在长期的疲劳运动后有炎性反应。滑膜炎是关节炎的主要致病因素之一，而炎性细胞浸润导致的炎性递质释放，可能改变神经传入终末的敏感性，从而引起膝前疼痛症状^[37]。

在进行软骨的 Mankin 评分时，遵循盲法原则，不对评分人员透露标本分组，结果发现左膝关节虽然没有进行造模活动，但仍可见到一定程度的软骨病损。为了鉴别这种情况是兔膝关节软骨的正常表现，还是受到了对侧造模活动的影响，作者重新饲养了动物，不进行造模活动，之后解剖并取病理，在光镜下观察到了完全正常的软骨病理图像，没有出现软骨细胞的明显增殖与肥大，也没有观察到软骨染色的加深，提示左侧出现的软骨病损可能是在造模活动时受到了影响；也可能是因为单侧造模后，造成了右侧髌股关节的损伤，动物因疼痛将身体重心移到左侧，导致左侧关节承重增加，造成了另一种形式的劳损。未来的研究中需要改变造模方法，比如采用双侧造模法来规避这种影响，进行更深入的探究。

此次实验中也对实验动物进行了膝关节 MRI 的检查。将实验动物麻醉后，增加配重调整参数后，将其双侧膝关节固定于膝关节核磁共振圈内进行图像采集；在采集到的图像中，可以看到右侧兔髌骨软骨信号不均匀，但是由于样本数量较少，还需要进一步的研究充实结果。

经典的模型研究需要反复的验证，运动的强度、时间、造模周期等多种因素都会影响实验的结果^[38-39]。在对病理标本进行大体观察的过程中，发现有动物出现软骨下出血，提示可能存在运动量过大的情况。未来的实验研究中，还需要针对不同影响因素设置多水平的重复实验，摸索出最合适稳定的造模方案。

结论：顺轴疲劳运动可以对髌股关节软骨造成病损，这种软骨病损以软骨表面的肿胀、发泡、裂隙为主要表现，在光镜下可以观察到软骨细胞的坏死与反应性增殖。因顺轴疲劳运动造成的髌股关节软骨病损较为轻微，可经大体观察与组织学观察结果确认，将来可在此次研究的基础上进行发散性研究，或者更深入的探索。

致谢：向河南省洛阳正骨（河南省骨科医院）冯坤主任及王智勇主任表示感谢，在实验过程中给予了及时、准确的指导工作。

作者贡献：谭新访负责实验动物的饲养与实验操作，以及实验结果的观察、数据统计分析及论文撰写；郭艳幸设想此项目，并负责项目的整体设计与指导工作，负责造模机的设想、设计与指导；赵东亮与陈皓宇负责造模机器的制造、完善与维修；秦晓飞、张斌清、潘琨琨、李瑜卓负责实验指标的测定与评估。

经费支持：该文章接受了“全国中医学术流派传承工作室建设项目（国中医药人教函[2016]227号）及2019年河南省科技攻关项目（192102310433）”的基金资助。所有作者声明，经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突：文章的全部作者声明，在课题研究和文章撰写过程，不存在利益冲突。

机构伦理问题：实验方案经河南省洛阳正骨医院（河南省骨科医院）动物实验伦理委员会批准，批准号为KY2020-009-02。实验过程遵循了国际兽医学编辑协会《关于动物伦理与福利的作者指南共识》和本地及国家法规。

写作指南：该研究遵守国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。

文章查重：文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章外审：文章经小同行外审专家双盲外审，同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

生物统计学声明：文章统计学方法已经河南中医药大学统计学专家审核。

文章版权：文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明：这是一篇开放获取文章，根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款，在合理引用的情况下，允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展，同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献，并为之建立索引，用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- [1] GARCÍA-TRIANA SA, TORO-SASHIDA MF, LARIOS-GONZÁLEZ XV, et al. The Benefit of Perineural Injection Treatment with Dextrose for Treatment of Chondromalacia Patella in Participants Receiving Home Physical Therapy: A Pilot Randomized Clinical Trial. *J Altern Complement Med (New York, N.Y.)*. 2021;27(1):38-44.
- [2] DAMGACI L, ÖZER H, DURAN S. Patella-patellar tendon angle and lateral patella-tilt angle decrease patients with chondromalacia patella. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2020;28(8):2715-2721.
- [3] HONG E, KRAFT MC. Evaluating anterior knee pain. *Med Clin North Am*. 2014;98(4):697-717.
- [4] VAN MIDDELKOOP M, VAN DER HEIJDEN RA, SMA B. Characteristics and Outcome of Patellofemoral Pain in Adolescents: Do They Differ From Adults? *J Orthop Sports Phys Ther*. 2017;47(10):801-805.
- [5] BERNSTEIN K, SEALES P, MROSZCZYK-MCDONALD A. Selected Musculoskeletal Issues in Adolescents. *Prim Care*. 2020;47(2):257-271.
- [6] STEINBERG N, TENENBAUM S, WADDINGTON G, et al. Unilateral and bilateral patellofemoral pain in young female dancers: Associated factors. *J Sports Sci*. 2020;38(7):719-730.
- [7] HIEMSTRA LA, KERSLAKE S, KUPFER N, et al. Generalized joint hypermobility does not influence clinical outcomes following isolated MPFL reconstruction for patellofemoral instability. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2019;27(11):3660-3667.
- [8] FERREIRA AS, MENTIPLAY BF, TABORDA B, et al. Exploring overweight and obesity beyond body mass index: A body composition analysis in people with and without patellofemoral pain. *J Sport Health Sci*. 2021;S2095-2546(21)00068-5.
- [9] RHON DI, ROY TC, OH RC, et al. Sex and Mental Health Disorder Differences Among Military Service Members With Patellofemoral Syndrome. *J Am Board Fam Med*. 2021;34(2):328-337.
- [10] FONES L, JIMENEZ AE, CHENG C, et al. Trochlear Dysplasia as Shown by Increased Sulcus Angle Is Associated With Osteochondral Damage in Patients With Patellar Instability. *Arthroscopy*. 2021;S0749-8063(21)00446-1.
- [11] AMBRA LF, HINCKEL BB, ARENDT EA, et al. Anatomic Risk Factors for Focal Cartilage Lesions in the Patella and Trochlea: A Case-Control Study. *Am J Sports Med*. 2019;47(10):2444-2453.

- [12] DURAN S, CAVUSOGLU M, KOCADAL O, et al. Association between trochlear morphology and chondromalacia patella: an MRI study. *Clin Imaging*. 2017;41:7-10.
- [13] CILENGIR AH, CETINOGLU YK, KAZIMOGLU C, et al. The relationship between patellar tilt and quadriceps patellar tendon angle with anatomical variations and pathologies of the knee joint. *Eur J Radiol*. 2021;139:109719.
- [14] DAMGACI L, ÖZER H, DURAN S. Patella-patellar tendon angle and lateral patella-tilt angle decrease patients with chondromalacia patella. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2020;28(8):2715-2721.
- [15] VAN MIDDELKOOP M, MACRI EM, EIJKENBOOM JF, et al. Are Patellofemoral Joint Alignment and Shape Associated With Structural Magnetic Resonance Imaging Abnormalities and Symptoms Among People With Patellofemoral Pain? *Am J Sports Med*. 2018;46(13):3217-3226.
- [16] GALLINA A, HUNT MA, HODGES PW, et al. Vastus Lateralis Motor Unit Firing Rate Is Higher in Women With Patellofemoral Pain. *Arch Phys Med Rehabil*. 2018;99(5):907-913.
- [17] DONG C, LI M, HAO K, et al. Dose atrophy of vastus medialis obliquus and vastus lateralis exist in patients with patellofemoral pain syndrome. *J Orthop Surg Res*. 2021;16(1):128.
- [18] DE SIRE A, MAROTTA N, MARINARO C, et al. Role of Physical Exercise and Nutraceuticals in Modulating Molecular Pathways of Osteoarthritis. *Int J Mol Sci*. 2021;22(11):5722.
- [19] MESSINA OD, VIDAL WILMAN M, VIDAL NEIRA LF. Nutrition, osteoarthritis and cartilage metabolism. *Aging Clin Exp Res*. 2019;31(6):807-813.
- [20] ÖZDEMİR M, KAVAK RP. Chondromalacia Patella among Military Recruits with Anterior Knee Pain: Prevalence and Association with Patellofemoral Malalignment. *Indian J Orthop*. 2019;53(6):682-688.
- [21] HARRIS M, EDWARDS S, RIO E, et al. Nearly 40% of adolescent athletes report anterior knee pain regardless of maturation status, age, sex or sport played. *Phys Ther Sport*. 2021;51:29-35.
- [22] GLAVIANO NR, BOLING MC, FRASER JJ. Anterior Knee Pain Risk Differs Between Sex and Occupation in Military Tactical Athletes. *J Athle Train*. 2021. doi: 10.4085/1062-6050-0578.20.
- [23] MANKIN HJ, JOHNSON ME, LIPPIELLO L. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteoarthritic human hips. III. Distribution and metabolism of amino sugar-containing macromolecules. *J Bone Joint Surg*. 1981;63(1):131-139.
- [24] SANCHIS-ALFONSO V, DYE SF. How to Deal With Anterior Knee Pain in the Active Young Patient. *Sports Health*. 2017;9(4):346-351.
- [25] SMITH RM, BODEN BP, SHEEHAN FT. Increased Patellar Volume/Width and Decreased Femoral Trochlear Width Are Associated With Adolescent Patellofemoral Pain. *Clin Orthop Relat Res*. 2018;476(12):2334-2343.
- [26] AKSAHIN E, AKTEKIN CN, KOCADAL O, et al. Sagittal plane tilting deformity of the patellofemoral joint: a new concept in patients with chondromalacia patella. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2017;25(10):3038-3045.
- [27] FIELD AE, TEPOLT FA, YANG DS, et al. Injury Risk Associated With Sports Specialization and Activity Volume in Youth. *Orthop J Sports Med*. 2019;7(9):1810917548.
- [28] 刘文渤, 陈博鉴, 林跃玮, 等. 富血小板血浆治疗膝关节软骨软化症的短期疗效观察 [J]. *实用骨科杂志*, 2020,26(12):1135-1138, 1147.
- [29] WANG B, LANG Y, ZHANG L. Histopathological changes in the infrapatellar fat pad in an experimental rabbit model of early patellofemoral osteoarthritis. *Knee*. 2019;26(1):2-13.
- [30] TAKAHASHI I, MATSUZAKI T, KUROKI H, et al. Induction of osteoarthritis by injecting monosodium iodoacetate into the patellofemoral joint of an experimental rat model. *PLOS ONE*. 2018;13(4):e196625.
- [31] BEI MJ, TIAN FM, XIAO YP, et al. Raloxifene retards cartilage degradation and improves subchondral bone micro-architecture in ovariectomized rats with patella baja-induced- patellofemoral joint osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2020;28(3):344-355.
- [32] 王国良, 孙艳, 唐兆春, 等. 髌骨倾斜对兔髌骨关节软骨损害的实验研究 [J]. *中华关节外科杂志 (电子版)*, 2014,8(6):775-778.
- [33] 亓建洪, 黄煌渊, 陈世益, 等. 髌骨倾斜导致髌骨软骨软化实验研究 [J]. *中国运动医学杂志*, 1999,18(1):14-16.
- [34] KRIEGER EAG, KARAM FC, SODER RB, et al. Prevalence of patellar chondropathy on 3.0 T magnetic resonance imaging. *Radiologia Brasileira*. 2020;53(6):375-380.
- [35] 李威, 郭立平, 郭建华, 等. 膝关节相关参数对早期髌骨软化症的诊断价值 [J]. *中国骨与关节损伤杂志*, 2020,35(2):129-133.
- [36] WENZ W, BREUSCH SJ, GRAF J, et al. Ultrastructural findings after intraarticular application of hyaluronan in a canine model of arthropathy. *J Orthop Res*. 2000;18(4):604-612.
- [37] CLEMENTS KM, BALL AD, JONES HB, et al. Cellular and histopathological changes in the infrapatellar fat pad in the monoiodoacetate model of osteoarthritis pain. *Osteoarthritis Cartilage*. 2009;17(6):805-812.
- [38] BEDFORD TG, TIPTON CM, WILSON NC, et al. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol*. 1979;47(6):1278-1283.
- [39] LI FH, LI T, AI JY, et al. Beneficial Autophagic Activities, Mitochondrial Function, and Metabolic Phenotype Adaptations Promoted by High-Intensity Interval Training in a Rat Model. *Front Physiol*. 2018;9:571.

(责任编辑: GD, ZN, SX)